UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA

Facultad de MEDICINA

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA COLORACIÓN H-E PARA LA DETECCIÓN DE EOSINÓFILOS EN SEDIMENTO URINARIO

DETERMINATION OF THE SENSITIVITY AND SPECIFICITY OF H-E COLORATION FOR THE DETECTION OF EOSINOPHILS IN URINARY SEDIMENT

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA APATOLÓGICA

AUTORES

MARICELA ALVAREZ TAFUR
CLAUDIO WILFREDO CHILENO CASTILLO
SORAIDA CECILIA SILVA TEMPLADERA

ASESORES
Dr. ELEAZAR ANTONIO ANTUNEZ DE MAYOLO

LIMA - PERÚ
1997

JURADO

Presidente: Dr. Cesar Augusto Salinas Cerquin

Secretario: Dr. Luis Estremadoyro Stagnaro

Vocal: Dr. José Aguilar Olano

Fecha de sustentación: 27 – 04 - 1997

Calificación: Aprobado

ASESOR DE TESIS

ASESOR

Dr. Eleazar Antonio Antúnez de Mayolo

DEDICATORIA

A nuestros padres por su apoyo incondicional: abnegado sacrificio y motivación constante que hicieron posible la culminación de nuestros anhelos.

LOS ALUMNOS

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Doctor Eleazar Antonio Antúnez de Mayolo, Jefe del Laboratorio de Inmunología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia por su apoyo y dedicación en el desarrollo del presente trabajo

Al Dr. Felio Palomino Paz por su colaboración incondicional.

Al personal del servicio de Urología del Hospital Nacional "Arzobispo Loayza" y al personal del Laboratorio de Nefrología del Hospital Nacional "2 de Mayo"

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA COLORACIÓN H-E PARA LA DETECCIÓN DE EOSINÓFILOS EN SEDIMENTO URINARIO

ORIGINALITY REPORT

16 %	16%	1%	4%
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	es.scribd.com Internet Source	3 %
2	documents.mx Internet Source	2 %
3	repositoriobibliotecas.uv.cl Internet Source	2 %
4	idoc.pub Internet Source	2 %
5	pesquisa.bvsalud.org Internet Source	1 %
6	docplayer.es Internet Source	1 %
7	Submitted to UNIV DE LAS AMERICAS Student Paper	1 %
8	fdocumenti.com Internet Source	1 %
	kupdf.net Internet Source	

INDICE

I. INTRODUCCIÓN 1
II. MARCO TEÓRICO 3
2.1 ANTECEDENTES 3
2.2 BASES TEÓRICAS 7
III. MATERIALES Y MÉTODOS 12
3.1. METODOS 12
3.2. MATERIALES Y EQUIPOS 16
3.3. REACTIVOS 17
IV. RESULTADOS 19
V. DISCUSIÓN 22
VI. CONCLUSIONES 24
VII. RECOMENDACIONES 25
VIII. GLOSARIO 26
8.1. COLOR. 26
8.2. COLORACIÓN. 26
8.3. COLORANTE 26
8.4. EOSINOFILURIA. 27
8.5. HEMATURIA. 27
8.6. LEUCOCITURIA. 27
8.7. ORINA. 27
8.8. PH. 28
8.9. PIURIA. 28
IX. BIBLIOGRAFIA 29
X. GRAFICOS, TABLAS E ILUSTRACIONES 32
XI. ANEXOS 40

ABREVIATURAS

GR	:	Glóbulo Rojo
HN2MAYO	:	Hospital Nacional 2 de Mayo.
H-E	:	Hematoxilina Eosina.
HNAL	:	Hospital Nacional Arzobispo Loayza.
HPB	:	Hiperplasia Prostática Benigna.
IC	:	Intervalo de Confianza.
IRC	:	Infección Renal Crónica.
ITU	:	Infección de Tracto Urinario.
NIA	:	Nefritis Intersticial Aguda.
QP	:	Químicamente puro.
UPCH	:	Universidad Peruana Cayetano Heredia
VPP	:	Valor Predictivo Positivo.
VPN	:	Valor Predictivo Negativo.

RESUMEN

En la presente Investigación se realizó un estudio prospectivo de tipo experimental de laboratorio con la finalidad de evaluar la sensibilidad y especificidad de la coloración de H-E en base a la Coloración de Hansel (Método de referencia). El estudio consistió en evaluar la leucocituria de 137 pacientes con enfermedades renales y/o del tracto urinario, de los cuales 55 presentaron leucocituria mayor de 5 por campo de 40x. los que fueron evaluados para determinar la presencia de eosinófilos en orina, realizándose un frotis con los sedimentos urinarios de estos pacientes, posteriormente fueron coloreados con la técnica de Hansel y H-E. contándose el número de eosinófilos en 200 leucocitos. Con la coloración de H-E se obtuvo una sensibilidad de 81.5% y una Especificidad de 89.3%, por lo que se recomienda a la coloración de H-E como un método alternativo para el diagnóstico de la Eosinofiluria.

Palabras clave: Coloración, eosinófilos, leucocitos, sedimento.

ABSTRAC

In the present investigation, a prospective experimental laboratory study was carried out with the purpose of evaluating the sensitivity and specificity of H-E staining based on Hansel Staining (Reference method). The study consisted of evaluating the leukocyturia of 137 patients with kidney and/or urinary tract diseases, of which 55 presented leukocyturia greater than 5 per 40x field. those who were evaluated to determine the presence of eosinophils in urine, making a smear with the urinary sediments of these patients, subsequently they were colored with the Hansel and H-E technique. counting the number of eosinophils in 200 leukocytes. With H-E staining, a sensitivity of 81.5% and a Specificity of 89.3% was obtained, which is why H-E staining is recommended as an alternative method for the diagnosis of Eosinophilia.

Keywords: Stain, eosinophils, leukocytes, sediment

I. INTRODUCCIÓN

Durante mucho tiempo el examen microscópico ha constituido parte vital del análisis de orina, siendo una herramienta diagnostica valiosa para la detección y evaluación de trastornos renales y del tracto urinario, así como de otras entidades sistémicas.

La leucocituria es una de las anormalidades urinarias observadas con mayor frecuencia tanto en niños como en adultos. Los leucocitos pueden entrar en cualquier punto del tracto urinario desde el glomérulo hasta la uretra. El aumento de leucocitos en la orina está asociado con procesos inflamatorios del tracto urinario, siendo los leucocitos atraídos hacia las áreas de inflamación, migrando y localizándose en dichas áreas.

La mayoría de leucociturias están constituidas por neutrófilos, careciendo esta de eosinófilos y cuya presencia constituye un hallazgo patológico denominado eosinofiluria (3). La eosinofiluria ha sido descrita en varias entidades clínicas principalmente en nefritis intersticial aguda (NIA) inducida por drogas (8.11), pielonefritis (6), glomerulonefritis (3), prostatitis y rechazo de trasplanté (14).

La determinación de eosinófilos es una prueba muy útil y práctica en el diagnostico de ciertas patologías renales y del tracto urinario, varios autores afirman que el hallazgo de eosinofiluria es sensible y específica para el diagnóstico de NIA (4,13), siendo la adaptación de técnicas de coloración para el mejor reconocimiento de los eosinófilos presentes en la orina un constante reto de los investigadores.

Los eosinófilos pueden ser identificados en un sedimento urinario a través de diferentes coloraciones descritas en la literatura como son Wrigth, Hansel,

Sternheimer y la nueva Sternheimer Supravital (4). Nolan, en 1986 realizó un estudio sobre incidencia de eosinofiluria afirmando que el colorante Hansel perfecciona la observación de eosinófilos en comparación a otras coloraciones (12).

Con el interés de hallar un método alternativo de alta sensibilidad y especificidad en comparación al método de referencia (coloración de Hansel) para el diagnóstico de eosinófilos en orina y siendo conscientes de las diversas dificultades que presentan las otras coloraciones mencionadas; se eligió la coloración de H-E como método alternativo dada la demostrada utilidad de la coloración en la identificación de eosinófilos en tejidos.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES

Varias pruebas de laboratorio han sido abordadas para asistir en el diagnóstico de diferentes enfermedades del tracto urinario y renal. La observación microscópica es común y especifica en la alta permanencia de elementos anormales en la orina. La presencia de eosinófilos en la orina es conocida como eosinofiluria.

La demostración de eosinófilos en sedimento urinario es de ayuda diagnóstica esencialmente en NIA inducida por drogas (7,8) así como de pielonefritis, glomerulonefritis, infección del tracto urinario, rechazo de trasplante renal, entre otros (3,4,12).

Los eosinófilos en la orina pueden ser detectados de igual forma que en la sangre por medio de coloraciones tales como Hansel, Wrigth, Sternheimer y la nueva Sternheimer Supravital (14).

La coloración de Wrigth está bien determinada para colorear muestras de sangre, sin embargo, su utilidad ha sido ampliada en el reconocimiento de eosinófilos en la orina, siendo este técnicamente difícil, por lo que la apariencia azul de los gránulos de los eosinófilos y la identificación a través de la morfología nuclear está llena de confusiones especialmente por la confluencia de células en el campo (12), Galpin

hipotetizó que el medio ácido de la orina puede ser responsable para la coloración variable de los gránulos de eosinófilos a través de la coloración de Wrigth (4).

En noviembre de 1978, Jefrey E. Galpin, M.D, describieron 14 pacientes con síndrome de nefritis intersticial inducido por meticilina de los cuales 09 pacientes estudiados con coloraciones de Wrigth para sedimento urinario tuvieron una marcada eosinofiluria. Estos hallazgos son sugestivos de nefritis intersticial inducida por meticilina, Eisenstead describió primero la eosinofiluria en reacciones alérgicas del tracto urinario (4).

Spencer, Posbore y Peterien reportaron orina con eosinófilos en 9 de 14 casos de trasplante renal. Herguson y Lidquist hallaron que más del 33% de los leucocitos fueron eosinófilos en 5 casos de nefritis intersticial de 228 pacientes con enfermedad del tracto urinario con coloración de Wrigth.

En junio de 1985 el Dr. Howard L. Corvin utilizó la coloración de Wrigth para la determinación de la eosinofiluria en correlación con la clínica, se preparó un control de sangre conocido para ser positivo por eosinófilos se coloreo simultáneamente y examino el sedimento urinario. En este estudio la correlación de la eosinofiluria con la clínica fue efectuada sobre la base de 470 pacientes, de quienes su orina fue específicamente examinada, los eosinófilos fueron notados en sedimento urinario de 65 pacientes (16%), en una variedad de condiciones clínicas, afectando el

tracto urinario (46%), seguida de NIA asociado con drogas y especímenes de biopsia renal (7).

De igual forma las tinciones de Sternheimer, y la nueva Sternheimer Supravital no fueron de gran uso en la determinación de eosinofiluria. Tinciones Supravitales del sedimento urinario con eosina al 1% son de gran ayuda algunas veces, pero ocasionalmente los gránulos intracitoplasmáticos fueron teñidos de verde o de gris verdoso. Esta dificultad en la tinción está relacionada a la variación del pH de las muestras de orina, sin embargo, las células pueden ser distinguidas por su apariencia bilobulada comparadas con los leucocitos polimorfonucleares o linfocitos (4).

La coloración de Hansel que fue originalmente desarrollada para la identificación de eosinófilos en las secreciones nasales, bronquiales y oculares, también ha sido adaptada para perfeccionar la detección en el sedimento urinario. En 1986, Nolan y Cols. determinaron que el colorante de Hansel perfecciona substancialmente el reconocimiento de la eosinofiluria comparado con el colorante de Wrigth, basándose en estudios realizados sobre la incidencia de eosinofiluria en diversos desordenes agudos del tracto genito-urinario (ver anexo 1). La eosinofiluria fue demostrada por el colorante de Hansel en 10 de 11 pacientes, diagnosticados clínicamente en NIA inducida por drogas, incluyendo a 2 pacientes quienes tuvieron una confirmación histológica a través de la biopsia renal. En contraste, el colorante Wrigth demostró eosinofiluria en solo 2 de 11

pacientes con NIA y fue negativo en ambos con confirmación histológica de biopsia renal (12).

En la comparación del colorante de Wrigth con el colorante de Hansel es notable que ambos son de doble coloración en los que los colorantes pertinentes son eosina y azul de metilo. Sin embargo, la preparación del colorante es diferente en las dos técnicas, la coloración de Wrigth experimenta una alcalinización (con bicarbonato de sodio) y luego es bufferado a un pH 6.8; en cambio la coloración de Hansel no es expuesta a ninguna sustancia alcalina o calentamiento.

El colorante de Hansel facilita significativamente el reconocimiento de la eosinofiluria en comparación con el colorante Wrigth. En el colorante de Hansel, los eosinófilos urinarios son rápidamente identificados a través de sus brillantes gránulos de color rojo o rosado.

En la comparación del colorante Wrigth con el colorante H-E, es notable que ambas técnicas sean de doble coloración, en Las cuales el colorante citoplasmático es la eosina y el colorante nuclear el azul de metileno y hematoxilina respectivamente. En la coloración de H-E se identifica a los eosinófilos a través de sus brillantes gránulos de color rojo, el citoplasma rosado y el núcleo pardo negruzco o azul negruzco.

En 1993, se realizó un estudio sobre comparación de la coloración de H-E frente a la coloración Wrigth (1). La eosinofiluria demostrada por el colorante Wrigth tuvo una sensibilidad de 13.1% y la especificidad 75% en contraste la coloración H-E obtuvo una sensibilidad de 29.8% y especificidad del 87.5%. Cabe mencionar que este estudio fue realizado comparando solo dos coloraciones anteriormente mencionadas.

2.2 BASES TEÓRICAS

2.2.1 LEUCOCITOS O GLOBULOS BLANCOS.

Son células de la sangre, junto con los anticuerpos y aparte las barreras epiteliales constituye el dispositivo protector importante de que está dotado el organismo para defenderse en todo momento contra numerosos agentes microbianos, a los que puede fagocitar y digerir.

La cantidad normal de leucocitos en sangre por milímetro cúbico varía entre 6.000 y un máximo de 10,000 elementos término medio 8,000 por milímetro cúbico de sangre (5).

2.2.2 EOSINOFILOS

Son células que pertenecen a la serie blanca de la sangre. Son un poco mayores que los neutrófilos y poseen granulaciones acidófilas, es decir de naturaleza básica con apetencia para los ácidos, su composición química es a base de arginina, desdoblable

por la arginasa. Son células menos móviles que los neutrófilos en general su núcleo está poco segmentado, los eosinófilos sólo cuentan con uno o dos lóbulos.

Los eosinófilos son elementos que revelan la sensibilidad del organismo ante un producto extraño (5).

2.2.3 COLORANTES

Son compuestos químicos que colorean diferentes estructuras celulares. Los colorantes ácidos se unen con los componentes básicos de las células (citoplasma) e inversamente, los colorantes básicos son atraídos por los compuestos ácidos de la célula y se combinan con ellos (ácidos nucleicos y nucleoproteínas del núcleo) la eosina es un colorante ácido por lo que se puede emplear indistintamente los términos "eosinofílicos" y "acidófilos" para describir las propiedades tintóreas de los componentes celulares (10).

2.2.4 HEMATOXILINA.

Es un colorante natural que se extrae del corazón o duramen del árbol Haematoxylon campechianum. Este árbol se encontró por primera vez en la región de Campeche en México, cuyos habitantes

conocían bien sus propiedades colorantes. Estos se cortan en trozos pequeños para la extracción, y el colorante obtenido se utiliza no solamente para microscopía, sino también para teñir la seda y la lana.

En 1862 Wildeyer dio aplicación por primera vez en la histología. El extracto natural que se obtiene de la madera (Hematoxilón) no es un colorante activo; primero debe ser oxidado para dar Hemateína. Este proceso de oxidación se llama "maduración". La oxidación puede darse por dos formas:

a. Forma natural.

Se realiza por medio del aire (O2); es un proceso lento.

b. Forma artificial.

Se realiza por medio de sustancias químicas, es un proceso rápido, denominado oxidación espontánea (10).

2.2.5 EOSINA

Las eosinas son xantenos ácidos o colorantes de ftaleína. Los representantes más comunes de este grupo de colorantes comerciales son la eosina Y, la eosina B, la floxina, la eritrosina. La eosina misma deriva su nombre de su color parecido a la aurora; el "Y" quiere decir amarillento, pues éste es el color predominante de su solución. La eosina se utiliza sobre todo como colorante de fondo o

de contraste, en unión con los colorantes de núcleos como la hematoxilina.

La eosina es el colorante de contraste citoplasmático más. utilizado en las técnicas de hematoxilina (10).

2.2.6 HISTORIA

Erlich fue el primero en utilizar colorantes simples de anilina primero y después como colorantes ácido básicos mezclados de antemano (colorantes neutros) en esta forma logró su histórico colorante tríacido (cuyo nombre es equivocado). Es una mezcla de anaranjado G. fucsina acida y verde de metilo se combinan con los dos colorantes ácidos, de donde vino el nombre, ya no se usa en la actualidad.

Jenner (1889), encontró que el precipitado obtenido por la mezcla de eosina y azul de metileno podía disolverse en alcohol metílico para formar un colorante útil, que combina algunas propiedades de los colorantes iniciales. El colorante de Jenner es muy parecido al de May-Grunwald.

Romanoski (1890). Encontró que al mezclar una solución de azul de metileno vieja (madura, y por lo tanto "policromática") con

eosina y disolviendo el precipitado en alcohol metílico, se obtenía un colorante de uso más amplio que el de Jenner que podía teñir los núcleos celulares y los gránulos de las plaquetas (a los que la mezcla de Jenner no coloreaba).

Colorantes modernos de Romanoski. por ejemplo, los colorantes de Wright. Leishman etc., son semejantes en principio al método de obtención de la policromía del azul de metileno.

Wright (1902). Este excelente colorante se utiliza ampliamente sobre todo en América. En su preparación la policromía del azul de metilo, se obtiene por calentamiento con bicarbonato de sodio. Puede comprarse en solución listo para el uso o bajo forma de polvo, el cual se disuelve cuidadosamente en alcohol metílico.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. METODOS

Entre Octubre y Diciembre de 1996. fueron tomados los especímenes de orina de 137 pacientes de ambos sexos con enfermedades renales y/o del tracto urinario del Hospital Nacional "2 de Mayo" y del Hospital Nacional "Arzobispo Loayza". Lima.

Las muestras fueron tomadas del servicio de Nefrología del Hospital Nacional "2 de Mayo" correspondiente a pacientes ambulatorios, mientras que las muestras del Hospital Nacional "Arzobispo Loayza", Pabellón 10B a pacientes hospitalizados ambos con diagnósticos establecidos. A cada paciente se le llenó una ficha de acopio de Información. (Anexo 2).

Se incluyeron en el estudio aquellos casos que presentaron en el sedimento urinario un número mayor de 5 leucocitos por campo de 40x. a los cuales se les realizó la coloración de Hansel y H-E respectivamente evaluándose la presencia de eosinófilos.

La coloración, observación microscópica y lectura de las láminas coloreadas fue realizada en el Laboratorio de Inmunología de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH).

3.1.1 OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las muestras fueron de orina recién emitida, no necesariamente primera orina de la mañana, en razón a la dificultad para procesar antes de 60 minutos después de emitida la orina de los pacientes ambulatorios y a que la mayoría de pacientes hospitalizados tenían sonda uretral y/o vesical. La muestra se tomó previa higiene del paciente para evitar la contaminación con las células o bacterias del prepucio o vagina y teniendo en cuenta el período menstrual en mujeres para evitar errores en el estudio. Las muestras de orina fueron procesadas inmediatamente después de su recolección.

3.1.2 PROCESAMIENTO DE LA MUESTRA

Preparación de las Láminas

Se tomaron entre 10-15 ml. de orina fresca evacuada en tubos de 13xl00mm. centrifugándolos a 2.000 rpm. durante 5 minutos; el sobrenadante fue decantado y el espécimen del sedimento fue pipeteado sobre una lámina porta objeto, sobre la cual se colocó una laminilla que fue observada en un microscopio de luz con objetivo de 40x evaluándose la presencia de células epiteliales, leucocitos, hematíes, cristales y otros.

Se seleccionaron diariamente aquellas muestras que presentaron leucocituria mayor a 5 leucocitos por campo. Luego se realizó un extendido suave en láminas porta objeto del sedimento urinario, dejándolas a una temperatura de 35-37 °C o a temperatura ambiente, hasta que se sequen.

3.1.3 COLORACION DE HANSEL

Preparación del colorante de Hansel:

Disolver 0.5 gr. de eosinato azul de metileno en 100 ml. de alcohol metílico exento de acetona (12).

TECNICA:

1. Fijar con metanol 95 0 por 5 seg.
2. Lavar con agua corriente.
3. Sumergir en el colorante de Hansel por 1 min. 30 seg.
4. Lavar con agua corriente.
5. Sumergir en agua destilada por 30seg.
6. Decolorar con metanol puro, seguido de un enjuague con agua destilada.
7. Leer con aceite de inmersión. Los eosinófilos se identifican por sus brillantes gránulos de color rojo o rosado (Fig.l)

3.1.4 COLORACIÓN DE HEMATOXILINA EOSINA:

Preparación de Hematoxilina de Harris:

Medir 5 gr. de Hematoxilina de Harris y disolver en 500ml. de alcohol absoluto. Disolver separadamente alumbre de amonio y Potasio 100 gr. en 1 Litro de agua destilada bajo la acción del calor, luego sacar del calor y unir las 2 soluciones. Hervir por 4min. pasado este tiempo se deja reposar y se agrega 2.5gr. de óxido rojo de mercurio en forma lenta. Se calienta hasta un color rojo púrpura oscura por 4-5 min. Dejar enfriar y filtrar antes de usar el colorante. Agregar de 2-4ml. de ácido acético glacial por cada l00ml. de colorante (10).

Preparación de la Eosina:

Disolver 1 gr. de Eosina y en l00 ml. de agua destilada.

TÉCNICA:

1. Fijar con Alcohol-Éter de 15 a 20seg.
1. Lavar con Agua corriente.
2. Coloración nuclear con Hematoxilina de Harris de 40- 50seg.
3. Lavado en agua corriente.
4. Eliminación del exceso de colorante por medio del agua acida o alcohol ácido por 5 seg.
5. Lavado en agua comente.
6. Lavado en agua amoniacal de 1 a 2 min.

7. Lavado en agua comente.
8. Coloración citoplasmática con Eosina Y al 1% por 30 seg.
9. Lavar en agua corriente.
10. Deshidratación en alcoholes de menor a mayor concentración.
11. Aclaramiento por los xiloles. para extraer el alcohol del frotis.
12. El montaje con bálsamo de cañada.
13. Lectura con objetivo de l00x. Los eosinófilos se identifican a través de sus brillantes gránulos de color rojo, el citoplasma rosado y el núcleo pardo negruzco o azul negruzco (Fig.2).

3.2. MATERIALES Y EQUIPOS

3.2.1. MATERIALES:

- Tubos de Prueba de 13xl00mm.
- Frascos estériles de boca ancha.
- Papel Kraft.
- Gasa de algodón.
- Pipeta de l0ml. 5ml.
- Probeta de lLt.
- Matraz de Erlenmeyer 500ml.
- Cocina eléctrica.
- Láminas Porta objeto.
- Láminas cubre objeto.

- Gradillas.
- Canastillas.
- Lápiz de cera.
- Recipientes de vidrio para coloración.
- Canastillas de metal para coloración.
- Reloj de tiempo.
- Esparadrapo.
- Pabilo.

3.2.2. EQUIPOS

- Microscopio Óptico binocular NIKON.
- Centrífuga Internacional II de cabezal horizontal de 4 tubos.
- Estufa MEMMERT.

3.3. REACTIVOS

- Colorante de Hansel.
- Hematoxilina de Harris.
- EosinaYall%.
- Alcohol Absoluto.
- Alcohol éter.
- Metanol Q.P.
- Xilol.

- Aceite de Cedro.
- Bálsamo de Canadá.
- Ácido Clorhídrico QP.
- Amoniaco QP.

IV. RESULTADOS

La presente investigación se llevó a cabo en el período comprendido de Octubre a Diciembre de 1996. obteniéndose la información de los protocolos (Anexo No.2) previamente estructurados; de ellos se obtuvo la siguiente información:

Se procesaron 137 sedimentos urinarios de pacientes hospitalizados y/o ambulatorios en el Servicio de Urología del Hospital Nacional "Arzobispo Loayza" y en el Servicio de Nefrología del Hospital Nacional "2 de Mayo" (Gráfico No.01).

La Leucocituria fue diagnosticada en 55 pacientes (40%); 37 varones (67.3%o) y en 18 mujeres (32.7%). De los cuales se registraron las siguientes enfermedades de fondo siendo las más predominantes: Hiperplasia Prostática Benigna (HPB) en 15 pacientes (27.3%). seguida de la Infección de Tracto Urinario (ITU) en 8 casos (14.5%) (Tabla No.01).

Los sedimentos que mostraron leucocituria fueron coloreados por las técnicas de Hansel y H-E. La eosinofiluria fue determinada con la coloración patrón (Hansel) con la que se detectó 27 muestras positivas (49.1%) y 28 muestras negativas (50.9°) a eosinófilos. Aquellos sedimentos que fueron extendidos con demasiada presión entre las láminas, mostraron artefactos por compresión con ruptura celular (Fig.3). siendo estos casos excluidos del

presente trabajo. En base a estos resultados con la coloración de H-E se detectó 25 muestras con eosinófilos y 30 muestras negativas a eosinófilos (Tabla No.02).

Los diagnósticos de los pacientes que presentaron eosinofiluria fueron: HPB 7 casos, ITU 4 casos. Cáncer de pene 2 casos, Estenosis Uretral 2 casos, Elefantiasis escrotal 1 caso. Litiasis uretral vagino-rectal 1 caso. Litiasis renal 1 caso. Litiasis vesical 1 caso, Litiasis-ITU-IRC 1 caso, Litiasis-ITU 1 caso, Fístula Vesico-vagino-rectal 1 caso, 5 casos sin diagnóstico clínico (tabla No.03).

Con respecto a la clasificación en porcentaje de eosinófilos en un recuento de 200 leucocitos de las 27 muestras positivas con la coloración de Hansel se halló: 1-5% en 15 casos; menor a 1% en 10 casos de 6-10% en'l caso y mayor a 10% en 1 caso (Tabla No.04).

Con la coloración de H-E de las 25 muestras positivas la clasificación en porcentaje fue de 1-5% en 15 casos, menor 1% en 9 casos, mayor a 10% en 1 caso y 0 casos de 6-10%. Notándose qué con ambas coloraciones hubo una predominancia del 1-5%. (Tabla No.05). No se encontró relación entre la piuría cuantitativa y eosinófilos en orina (tabla No.06).

Al evaluar la Sensibilidad y Especificidad de la coloración de FI-E se obtuvo: 25/27 muestras positivas y 30/28 muestras negativas: siendo su

Sensibilidad de 81.5% (1061.24-92.97) y su Especificidad de 89.3% (IC=70.62-97.19) con respecto a la coloración patrón (Hansel) con un VPP de 88% y un VPN de 83% al 95% de confianza, (tabla No. 02).

V. DISCUSIÓN

La orina normal está desprovista de eosinófilos por lo tanto su presencia en el sedimento urinario permite asumir el término patológico, denominado eosinofiluria. La eosinofiluria es una anomalía clínica que se sucede en diversas entidades como: Pielonefritis. ITU, Prostatitis. NIA. Glomerulonefritis reportadas en la literatura.

Existen numerosos estudios realizados en búsqueda de un mejor método de coloración para el diagnóstico de la eosinofiluria. Siendo la coloración de Wright en un inicio la más conocida, además de su gran utilidad en la coloración de sangre.

En 1986 Nolan realizó un trabajo comparativo relacionando enfermedades del Tracto genko urinario y/o renal con las coloraciones de Wright y Hansel obteniendo como resultado que la coloración de Hansel perfecciona substancialmente el reconocimiento de eosinófilos en orina, estudio que fue seguido por otros autores llegando a usar la coloración de Hansel como método de coloración en el Rush Prebisteran ST. Luke'S Medical Cerner. Chicago; sin embargo, esta no es muy conocido en nuestro medio.

En 1993 Chileno C. comparó la coloración de Wright y H-E obteniendo una baja sensibilidad y especificidad para ambas coloraciones. Sin embargo, la coloración de H-E sobresalió con respecto a la coloración de Wright.

En el presente trabajo se estudió la sensibilidad y especificidad de la coloración de H-E en comparación con la de Hansel (método de referencia) obteniendo una Sensibilidad de 81.5% y Especificidad de 89.3% con lo que podemos sugerirla como un método de coloración alternativo.

En aquellos casos que presentaron hematuria se observó que en la coloración de 'Hansel los eosinófilos se podían diferenciar mejor que con la coloración de H-E. debido al color rojo brillante que toman los hematíes, muy similar al de los eosinófilos. lo que ha contribuido a una menor sensibilidad con esta coloración por lo que se debe tener mucho cuidado en la evaluación de eosinófilos en orinas hematúricas por la colocación H-E. Sin embargo, es necesario llevar a cabo más estudios para correlacionar diversas patologías con eosinofíluria.

VI. CONCLUSIONES

a. La coloración de H-E presenta una sensibilidad de 81.5% y una especificidad de 89.3%: pudiendo ser utilizado como una coloración alternativa en el diagnóstico de eosinofiluria.

b. La sensibilidad de la coloración Hansel es mayor que la de H-E en casos de Hematuria Severa.

c. No existe correlación entre piuría cuantitativa y eosinofiluria.

d. La HPB representa la entidad clínica que más correlaciona con la eosinofiluria en la presente investigación.

VII. RECOMENDACIONES

1. El procesamiento de las muestras hasta su fijación debe realizarse en un plazo máximo de 60 minutos después de la obtención de la muestra.
2. La coloración de los extendidos se recomienda hacerlo previa fijación, para la coloración de Hansel con metano 1 Q.P. y para la coloración de H-E con alcohol-éter. esto ayuda a conservar mejor la morfología original de los elementos.
3. Realizar el extendido de la muestra de orina; sin hacer demasiada presión sobre la lámina ya que se puede destruir los leucocitos presentes.
4. Cuando el resultado del examen microscópico del sedimento urinario nos reporta una leucocituria extrema se debe proceder al examen de orina en fresco (sin centrifugar) para evitar la conglomeración de los "leucocitos que tienden a dificultar el reconocimiento de los eosinófilos.
5. Continuar trabajos de investigación con un mayor número de casos y patologías para poder relacionar la eosinofiluria con las diferentes entidades clínicas v con eosinofilia.

VIII. GLOSARIO

8.1. COLOR.

Impresión subjetiva del observador a estímulos luminosos entre 400 -700 mm de longitud de onda.

8.2. COLORACIÓN.

Efecto y acción para colorear.

La molécula del colorante tiene tres componentes.

1. Cromóforo. Vienen a ser los portadores del colorante, es decir pone de manifiesto el color de la sustancia.
2. Cromógeno. Es la combinación del cromóforo y un núcleo cromático. En sí viene a ser el colorante de la sustancia.
3. Auxocromo. Viene a ser el componente que aumenta la intensidad del color.

8.3. COLORANTE

Es toda sustancia preparada para transmitir su color.

8.4. EOSINOFILURIA.

Presencia de eosinófilos en la orina en diversas patologías renales. La presencia de eosinófilos se expresa en porcentaje de eosinófilos. luego de la observación de 200 leucocitos.

8.5. HEMATURIA.

Presencia de glóbulos rojos en la orina en cantidades anormales (mayor de 3 GR. por campo).

8.6. LEUCOCITURIA.

Presencia de Leucocitos en la orina mayor de 5 leucocitos por campo.

8.7. ORINA.

Líquido secretado por los riñones a través de la vejiga y que consta de los productos de desecho que se eliminan del organismo los componentes sólidos constituyen el 4% aproximadamente de su volumen, las más importantes de las cuales son la urea y el ácido úrico

8.8. PH.

Símbolo empleado para expresar la concentración de los iones de Hidrógeno o la medida de la alcalinidad y de la acidez PH 7 es el punto neutro, por encima de 7 es alcalino y por debajo de 7 es ácido.

8.9. PIURIA.

Presencia de pus en la orina. La piuría da un aspecto turbio a la orina, pero sólo puede ser comprobada en el examen microscópico por la presencia de numerosos leucocitos degenerados. Es posible encontrar un pequeño número de leucocitos, en particular polimorfonucleares

IX. BIBLIOGRAFIA

1. Chileno WC. Determinación de eosinófilos en orina mediante dos coloraciones Wright Vs. Hematoxilina-Eosina (Tesis de bachiller). Lima. Perú: Escuela de laboratorio clínico SSPNP. 1993, 58 pp.

2. Cohen SG. Ottesen EA. The eosinophil, eosinophilia and eosinophil - related disorders. En: Allergy principies and practice. Middleton EJ, Reed CE, Ellis EF. Vol 2. 2a ed. Louis, Mosby, 1983:701-69.

3. Eisendstreed JS. Allergy and Drug Hypersensitivy of the Urinary. Tract Journal Urol 1981; 65:101.

4. Galpin JE. Shinaberger JH, Stanley TM, et al. Acute intersticial nephritis due to methicillin. Ann J Med 1978; 65:756-65.

5. Graff SL. Examen microscópico. En: Análisis de orina atlas color. Koval PR. Wasserman AV. Medica Panamericana SA. Buenos Aires, 1987; 67

6. Helgason S. Lindquist B. Eosinophiluria. Scand J Urol Neprol 1972; 6:257-9.

7. Corwin HL. Korbet SM. Schwartz MM. Clinical correlates of eosoniphiluria. Arch Intern Med 1985; 145:1097-9.

8. Landais P. Goldfard B. Eosinophiluria and Drug-Induced Acute Intersticial Nephritis. N Engl J Med 1987; 25:1664.

9. Linton Al. Clark WF. Drieclger AA. et al. Acute intersticial nephritis due to drug. Ann Intern Med 1980;93: 735-41.

10. Linch MJ. Raphael SS. Mellor LD, et al. Tinción de los cortes. En: Métodos de laboratorio. Floch R. Vol 2. 2a ed. Nueva editorial Interamericana. México. 1987; 1148-55.

11. Maxwell D, Szwed JJ. Wahle W7 et al. Ampicillim nephropathy. Jama. 1974; 230:586-7.

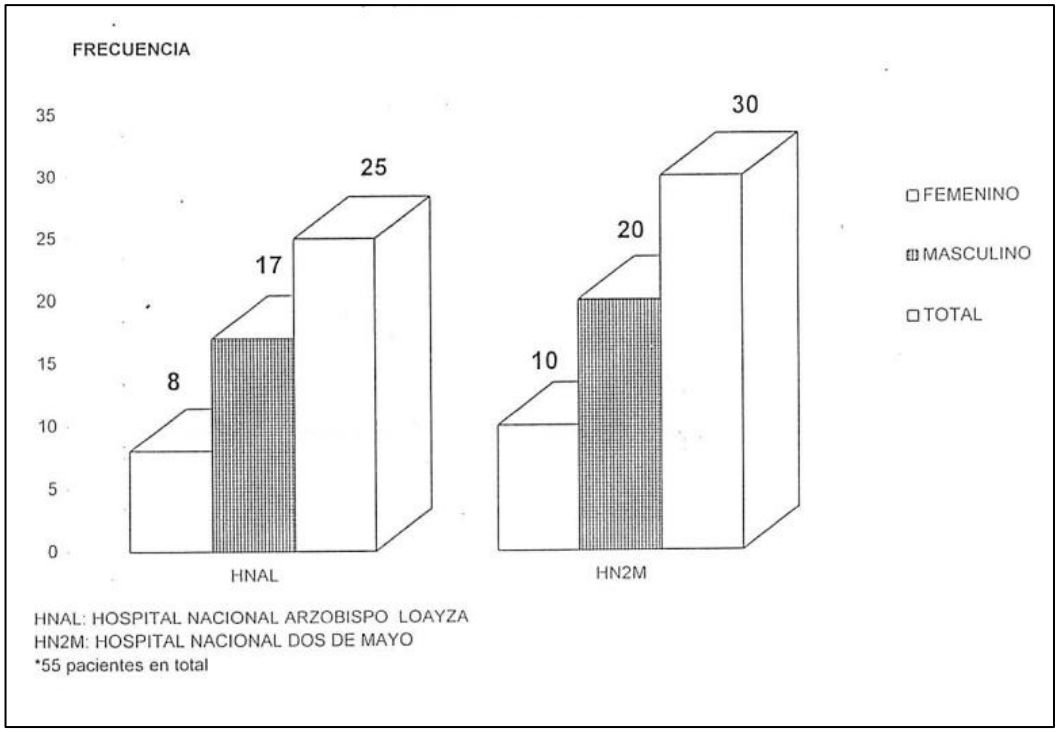
12. Nolan CR. Anger MS. Keheller SP. Eosinophiluria- A new method of detection and clinical of the spectrum. N Engl J Med 1986:316: 1516-9.

13. Pusey CD. Saltissi D. Bloodworth L. et al. Drug associated acute interstitial nephritis: Clinical and pathological and the response to high dose steroid therapy. Q J Med |1983; 52:194-211.

14. Spencer ES. Petersen VP. The urinary sediment after renal transplantation: Quantitative changes as an index of the activity of the tenal allograft reaction. Acta Med Scand 1967; 182:73-82.

X. GRAFICOS, TABLAS E ILUSTRACIONES

Figura 1. Distribución de pacientes con leucocituria según hospital de procedencia y por sexo octubre - diciembre 1996



Nota. Tomado del Hospital Nacional Arzobispo Loayza y del Hospital Nacional Dos de Mayo

DIAGNOSTICO	Nro.	%
CANCER DE PENE	2	3.6
ELEFANTIASIS ESCROTAL	1	1.8
ESTENOSIS URETRAL	2	3.6
FISTULA VESICO VAG-RECT	1	1.6
HPB	15	27.3
ITU	8	14.5
LITIASIS RENAL	2	3.6
LITIASIS URETRAL	.1.	1.8
LITIASIS VESICAL	2	3,6
LITIASIS. ITU, IRC	1	1.8
LITIASIS, ITU	I	1,8
NEFROLITIASIS	1	1-8
PROLAPSO	1	1.8
OTROS*	17	30.9
TOTAL	**55**	**100**

Tabla 1. Distribución de pacientes con leucocituria según el diagnóstico clínico
* Pacientes con diagnóstico clínico no determinado.

C. HANSEL - (EJE Y)

... POR...

C. HANSEL-(EJE X)

HANSEL

H-E	COLORACIONES	+	-	FILA TOTALES
	+	22 88,01% 81,50%	3 12,00% 10,70%	25 45,50% 45,50%
	-	5 16,70% 18,50%	25 83,30% 89,30%	30 54,50% 54,50%
	COLUMNA TOTALES	27 49,10%	28 28 50,90%	55

Tabla 2. resultados de la coloración de hematoxilina eosina con relación a la coloración patrón en especímenes urinarios

	CHI CUADRADO	VALOR P
CORREGIDA YATES	**24.98**	**0,00000058**

COLORACION H - E

Sensibilidad	81.5%
Especificidad	89.3%
Valores predictivos:	
Positivo	88.0%
Negativo	83.0%

DIAGNOSTICO	Nro.	%	Nro.	%
CANCER DE PENE	2	7,4	1	4.0
ELEFANTIASIS ESCROTAL	1	3,7	1	4.0
ESTENOSIS URETRAL	2	7,4	2	8.0
FISTULA VESICO VAG-RECT	1	3,7	1	4.0
HPB	7	25,9	7	28.0
ITU	4	14,8	2	8.0
LITIASIS RENAL	1	3,7	2	8.0
LITIASIS URETRAL	1	3.7	1	4.0
LITIASIS VESICAL	1	3,7	1	4.0
LITIASIS, ITU, IRC	1	3,7	1	4.0
LITIASIS, ITU	1	3.7	1	4.0
OTROS*	5	18.5	5	20.0
TOTAL	**27**	**100**	**25**	**100**

Tabla 3. Distribución de pacientes con eosinofiluria según el diagnóstico clínico y coloraciones.
*Pacientes con diagnóstico clínico no determinado

PORCENTAJE DE EOSINOFILOS	Nro.	%
< 1	10	37.0
1-5	15	55.6
6-10	1	3.7
> 10	1	3.7
TOTAL	**27**	**100**

Tabla 4. Clasificación de la eosinofiluria según el recuento en porcentaje con la coloración de Hansel

MEDIA : 1,74

DS : 0,71

PORCENTAJE DE EOSINOFILOS	Nro.	%
< 1	9	36
1-5	15	60
6-10	0	0
> 10	1	4
TOTAL	**25**	**100**

Tabla 5. Clasificación de la eosinofiluria según el recuento en porcentaje con la coloración de hematoxilina eosina

MEDIA :1,68

DS :0,56

NUMERO DE LEUCOCITOS POR CAMPO	EOSINOFILOS EN PORCENTAJE COLORACIÓN HANSEL				TOTAL
	< 1	**1 - 5**	**6 - 10**	**> 10**	
5 - 10	2	7	1	0	10
11-20	0	1	0	0	1
21 -40	1	J	0	1	5
41 - 100	7	4	0	0	11
TOTAL	**10**	**15**	**1**	**1**	**27**

Tabla 6. Relación de la eosinufiluria según el número de leucocitos en sedimento urinario

Figura 2. Coloración de HANSEL. Eosinofiluria en sedimento urinario

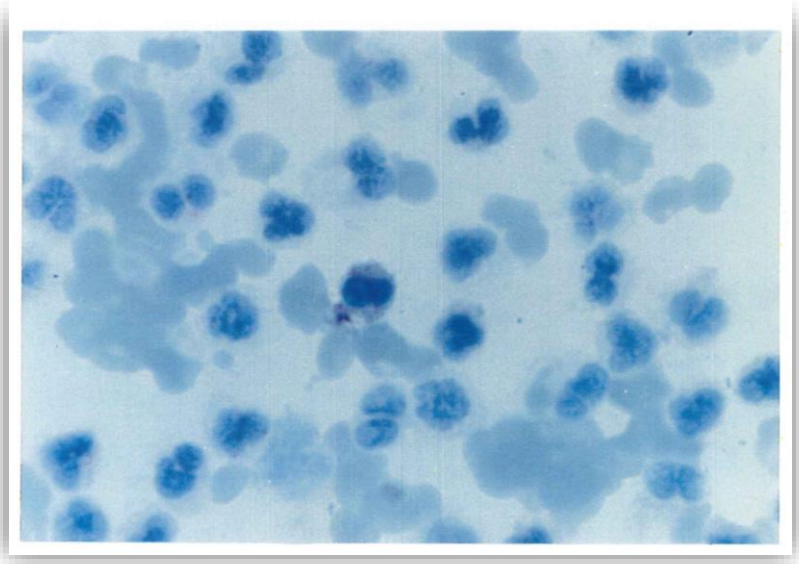


Figura 3. Coloración de H-E, Eosinófilo en sedimento urinario

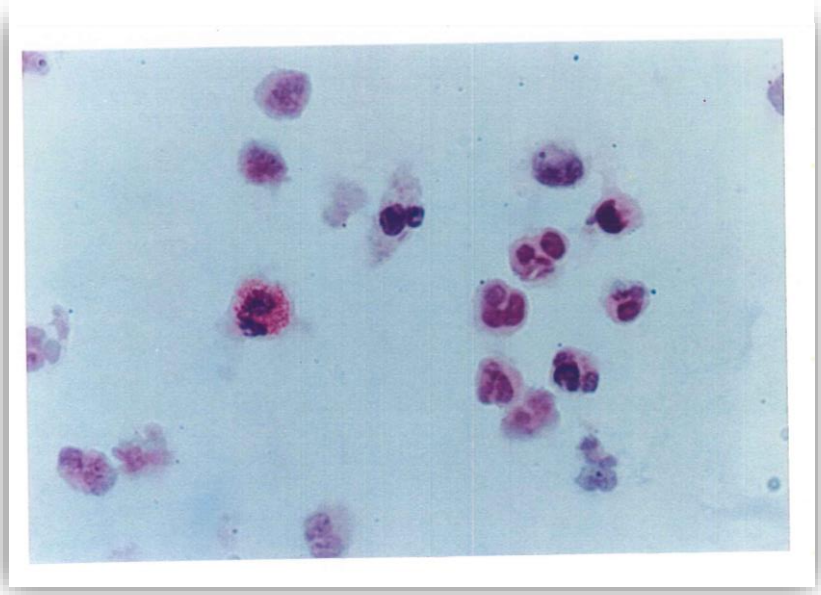
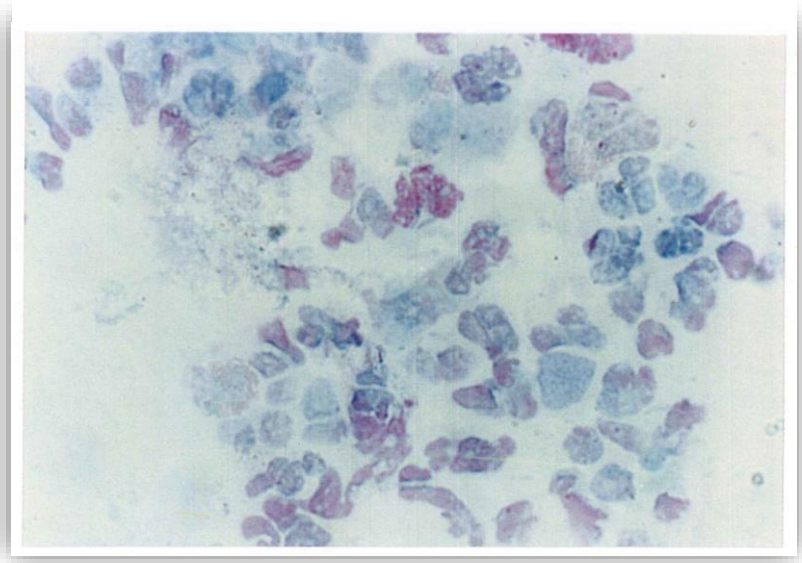


Figura 4. Coloración de HANSEL, Artefactos por comprensión con ruptura celular (Aumento 100 x)



XI. ANEXOS

ANEXO N° 1 Incidencias de eosinofiluria en desordenes agudos del tracto urinario.

ENFERMEDADES	No. DE EOSINOFILURIA COLORACION DE HANSEL	POSITIVA COLORACION DE WRIGHT
Nefritis Intersticial Aguda (n=11)	10	2
Glomerulonefritis rápida progresiva (n=10)	4	1
Glomerulonefritis Post-infecciosa (n=6)	1	0
Necrosis Tubular Aguda (n=30)	0	0
Pielonefritis Aguda (n=10)	0	0
Cistitis Aguda (n=15)	1	1
Prostatitis Aguda (n=10)	6	2

ANEXO N°2 "FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS"

EOSINOFILURIA - LABORATORIO.

Nombre……

Edad……. Sexo.....

Nro. HC……. Dx …….

Pabellón …… Cama…….

Fecha……

Sedimento Urinario

Leucocitos ……

Hematíes ……

Células Epiteliales ……

Cilindros ……

Cristales ……

Otros

Coloración de Hansel : Eosinófilo Si ( ) No ( )

% ..... Nro./Campo ……

Coloración de H-E: Eosinófilo Si ( ) No ( )

Observaciones……

……